

(51) Int.Cl. ^a	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 H 19/167		7822-4C		
A 6 1 K 31/70	ADU	8314-4C		
C 1 2 N 9/99				

審査請求 未請求 請求項の数3(全5頁)

(21) 出願番号 特願平3-64017

(22) 出願日 平成3年(1991)3月4日

(71) 出願人 000137764

株式会社ミドリ十字

大阪府大阪市中央区今橋1丁目3番3号

(72) 発明者 田沼 靖一

東京都八王子市小門町1-10

(72) 発明者 内藤 洋一郎

大阪府枚方市招提大谷2丁目1180番地の1

株式会社ミドリ十字中央研究所内

(72) 発明者 中島 常隆

大阪府枚方市招提大谷2丁目1180番地の1

株式会社ミドリ十字中央研究所内

(74) 代理人 弁理士 高島 一

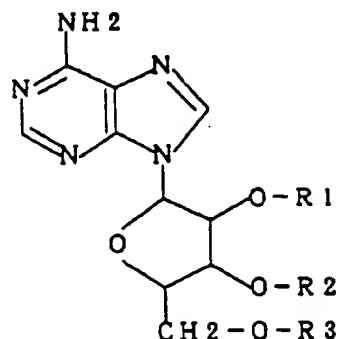
(54) 【発明の名称】 アデノシン誘導体およびその用途

(57) 【要約】

【目的】 ポリ(ADP-リボース)グリコヒドロラーゼ阻害に基づく抗癌作用を有する新規アデノシン誘導体を提供すること。

【構成】 一般式

【化1】



(式中、R¹、R² および R³ はそれぞれガロイルを示す。)

で表わされるアデノシン誘導体。

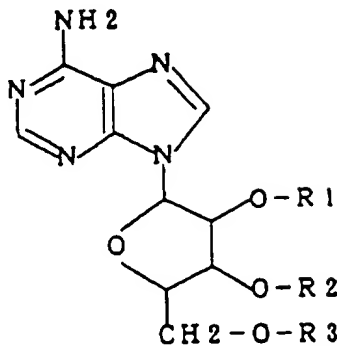
1

2

【特許請求の範囲】

【請求項1】 一般式

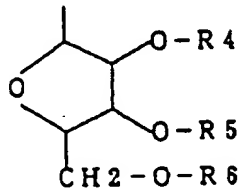
【化1】



(1)

【式中、R¹ は水素原子、一般式

【化2】



で示される基またはA（ただし、Aは水酸基および低級アルコキシから選ばれる複数の基で置換されたフェニルを有するカルボニル）を示し、R² ~ R⁶ は、それぞれ水素原子またはA（ただし、Aは前記と同意義）を示す。ただし、R¹ ~ R³ およびR² ~ R⁶ は、同時に水素原子を示すことはない。）

で表わされるアデノシン誘導体。

【請求項2】 請求項1記載のアデノシン誘導体を有効成分とするポリ（ADP-リボース）グリコヒドロラーゼ阻害剤。

【請求項3】 請求項1記載のアデノシン誘導体を有効成分とする癌免疫療法剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、新規なアデノシン誘導体およびその用途に関する。

【0002】

【従来技術・発明が解決しようとする課題】現有的抗癌剤の殆どは、DNA合成あるいは細胞分裂を抑制する作用を持つが、これは正常細胞に対しても同等な作用を示す。わずかに癌細胞は細胞分裂が速く、正常細胞は遅いと言う差を利用して癌細胞により多くの障害を与えることで癌治療が成り立っている。正常細胞が受けた障害は、副作用として表現され、生体はその副作用にどこまで耐えられるかが、癌治療の上で重要なポイントとなっている。

【0003】以上のことから明らかなように、本来の癌治療は癌細胞の生物学、生化学等に根ざすべきものであるが、現実にはその様な癌治療法にまで結びついてい

い。

【0004】さて、癌の原因と言うと発癌物質、放射線およびウイルスの3つが古くより言われてきた。その内、癌ウイルスの持つ遺伝情報により細胞が癌化することが明らかになり、oncogene（癌遺伝子）なる言葉が生まれた。その後、癌遺伝子は正常細胞にも存在し、それがある時スイッチオンされて、細胞が癌化するという仮説が立てられたのである。これは、時の流れと共に発展し、今日その大筋が正しかったことは、当業者であれば推しも認めるところである。

【0005】一方、高等動物のゲノムには癌遺伝子となり得るproto-oncogeneは50種以上存在し、それらは正常細胞の増殖や分化に重要な生理機能を果たしている。それ故、細胞増殖や癌の制御の遺伝子レベルもしくは遺伝子産物レベルでのコントロールの可能性が生まれて来た。

【0006】本発明の目的は、癌遺伝子の発現を特異的に阻害し、これを抑制する癌治療剤を提供することにある。

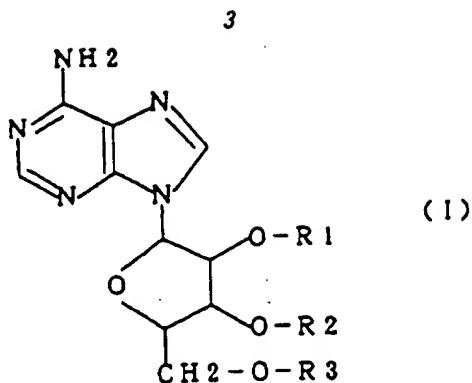
【0007】ところで、挿入されたマウス乳癌ウイルス（MMTV）遺伝子の発現がコルチコイドにより制御されているマウス乳癌細胞を用い、MMTV遺伝子発現にはクロマチンタンパク質での脱ポリADP-リボース反応が引金となっていることが見出されている。即ち、ポリADP-リボースが分解されることにより、その部分のクロマチン構造の局所変化が、最終的にはRNAポリメラーゼのプロモーターへの結合と転写促進につながると考えられている（ジャーナル・バイオリジカル・ケミストリー、258, 15371（1983））。

【0008】このような実情の下に、発明者はポリADP-リボースの分解を阻止すれば、癌遺伝子が活性化されなくなることを予想し、ADP-リボースの分解に関与する酵素であるポリ（ADP-リボース）グリコヒドロラーゼをヒト胎盤より分離精製し、本酵素に対し阻害作用をもつ化合物を検討した。その結果、幾つかの新規化合物に強い阻害活性を見出した。そして、さらに検討を進めポリ（ADP-リボース）グリコヒドロラーゼ阻害に基づく抗癌作用を有する医薬として、使用に耐え得る新規化合物を創製することに成功し本発明を完成した。

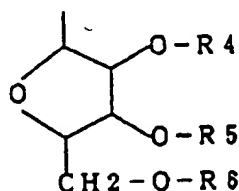
【0009】

【課題を解決するための手段】即ち、本発明の要旨は以下の通りである。① 一般式

【化3】



〔式中、R¹ は水素原子、一般式
〔化4〕



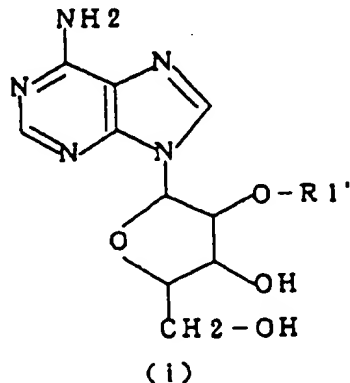
で示される基またはA（ただし、Aは水酸基および低級アルコキシから選ばれる複数の基で置換されたフェニルを有するカルボニル）を示し、R² ~ R⁶ は、それぞれ水素原子またはA（ただし、Aは前記と同意義）を示す。ただし、R¹ ~ R³ およびR² ~ R⁶ は、同時に水素原子を示すことはない。）

で表わされるアデノシン誘導体。

【0010】② 上記①記載のアデノシン誘導体を有効成分とするポリ（ADP-リボース）グリコヒドロラーゼ阻害剤。

【0011】③ 上記①記載のアデノシン誘導体を有効成分とする癌免疫療法剤。

【0012】本明細書において、Aで示される低級アルコキシは、好適には炭素数1~4であり、具体的にはメトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、ブトキシ、イソブトキシ、sec-ブトキシ、tert-ブトキシ等



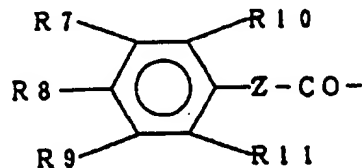
（上記式中、Aは前記と同意義、R^{1'} は水素原子または
〔化7〕

4

が例示されるが、特にメトキシが好ましい。

【0013】当該Aとしては、特にアルキレンまたはアルケニレンを介して、フェニルとカルボニルが結合したものおよびフェニルとカルボニルが直接結合したものが好ましい。アルキレンとしては、メチレン、エチレン、トリメチレン、テトラメチレン等の炭素数1~4のものが例示されるが、特にメチレン、エチレンが好ましく、アルケニレンとしては、炭素数1~4のものが例示され、特にビニレンが好ましい。

10 【0014】当該Aの好ましい例は、一般式
〔化5〕

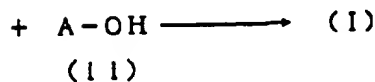


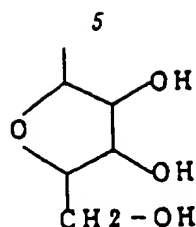
（式中、Zは直接結合、アルキレンまたはアルケニレンを、R⁷ ~ R¹¹は、それぞれ水素原子、水酸基または低級アルコキシを示す。ただし、R⁷ ~ R¹¹は同時に4個または5個の水素原子を示すことはない。）
で表わされる基である。

【0015】Aの特に好ましい具体例としては、ガロイル、4-ヒドロキシ-3-メトキシベンゾイル、4-ヒドロキシ-3, 5-ジメトキシベンゾイル、3, 4, 5-トリメトキシベンゾイル、4-ヒドロキシ-3-メトキシシンナモイル、4-ヒドロキシ-3, 5-ジメトキシシンナモイル、3, 4, 5-トリメトキシシンナモイル、3, 4, 5-トリヒドロキシベンジルカルボニル、3, 4, 5-トリヒドロキシフェネチルカルボニル等が例示される。

30 【0016】本発明のアデノシン誘導体（I）の製法としては、例えば、以下のような方法が挙げられる。

〔化6〕





を表わす)

【0017】上記反応は、通常のエステル反応により行われる。

【0018】出発原料である化合物(i)および(ii)はともに公知化合物であり、容易に入手することができる。なお、上記化合物(i)はアルコールであり、化合物(ii)はカルボン酸である。

【0019】

【発明の作用・効果】本発明のアデノシン誘導体(I)は、ヒトを含む哺乳動物(ヒト、ウマ、イヌ、マウス、モルモット、ラット等)に対してポリ(ADP-リボース)グリコヒドロラーゼ活性を有し、ポリ(ADP-リボース)グリコヒドロラーゼ阻害剤として悪性腫瘍、ウイルス性感染症の治療・予防に有用である。

【0020】本発明のアデノシン誘導体は、それ自体または製薬上許容されるキャリアとの医薬製剤の形で投与される。当該製剤は、自体既知の方法によって調製される。剤型としては、錠剤、カプセル剤、散剤、坐剤、注射剤等が例示される。

【0021】本発明のアデノシン誘導体は、経口的または非経口的に投与される。

【0022】本発明のアデノシン誘導体の投与量は、患者の年齢、体重および処置すべき病状の重度や治療に対する反応により変わりうるが、例えば、経口投与の場合、通常0.1~100mg/kg体重程度を1日1回または数回にわたって投与する。

【0023】

【実施例】以下に、本発明を詳細に説明するため実施例を挙げるが、本発明はこれら実施例によって何ら限定されるものではない。

【0024】実施例1

2',3',5'-トリ-O-ガロイルアデノシンの合成

ジメチルホルムアミド(50ml)、没食子酸(10g)および塩化ベンジル(27ml)から得られた溶液を140℃で一夜かき混ぜた酢酸エチルで希釈した。酢酸エチル層を水、飽和食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させた。減圧下溶媒を留去後、エタノール(200ml)および1.6N水酸化ナトリウム水溶液(50ml)を加え加熱還流を2時間行った。反応後、エタノールをエバポレーターで約半分ほど留去し、得られた残渣を0℃に冷却し、0.5Nの塩酸で液をpH2とした。その際、析出してきた固体をろ取した後、乾燥し化合物(15.6g、64%)を得た。化合物(7.0g)、塩化チオニル(40ml)そしてジメチルホルムアミド(100ml)を加え、その27μLに被験物質およびヒト胎盤よ

6

1)を加えた。得られた溶液を一夜加熱還流し、その後過剰の塩化チオニルを常圧そして減圧下で留去し3,4,5-トリベンジルオキシベンゾイルクロライドを調製した。

【0025】アデノシン(500mg)、ピリジン(10ml)からなる溶液中に、3,4,5-トリベンジルオキシベンゾイルクロライド(5.3g)を加え、室温で3日間かき混ぜた。反応後、反応液を酢酸エチルで希釈し得られた酢酸エチル層を水、1N塩酸、飽和食塩水で洗浄し硫酸マグネシウムで乾燥させた。減圧下溶媒を留去後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、溶媒:ヘキサン:酢酸エチル=1/2、2/3)に付しN,N',2',3',5'-ペンタキス(3,4,5-トリベンジルオキシベンゾイル)アデノシン(中間化合物1)(3.5g、76%)を得た。

【0026】中間化合物1(1.0g)、ベンゾイルヒドラジン(0.55g)、ピリジン(5ml)を加えた。得られた溶液を4時間加熱還流し、その後溶媒のピリジンを減圧下で留去した。得られた残渣を酢酸エチルで希釈し、酢酸エチル層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させた。減圧下溶媒を留去後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、溶媒:酢酸エチル:ヘキサン=1/2、1/1、2/1)に付し2',3',5'-トリ-O-ガロイルアデノシン(中間化合物2)(410mg、66%)を得た。

【0027】中間化合物2(2.4g)および酢酸エチル/メタノール(1/1:100ml)にパラジウム-ブラック(2.4g)を加え、水素雰囲気下で反応を開始した。室温で一夜かき混ぜた後、パラジウム-ブラックをろ去した。得られたろ液を濃縮し、液体クロマトグラフィー(カラム:asahipackODP-50分取用カラム、溶媒:60%メタノール)に付し目的化合物2',3',5'-トリ-O-ガロイルアデノシン(0.75g、66%)を得た。

【0028】¹H-NMR(DMSO-d₆)δ: 4.5-4.9(m, 3H), 5.9-6.0(m, 1H), 6.1-6.2(m, 1H), 6.43(d, J=5.6Hz), 6.88(s, 2H), 6.99(s, 2H), 7.04(s, 2H), 7.44(b r s, 2H), 8.19(s, 1H), 8.35(s, 1H), 8.9-9.6(m, 9H)

【0029】IR(KBr, cm⁻¹): 3300, 1700, 1635, 1600

【0030】実験例1 ポリ(ADP-リボース)グリコヒドロラーゼ阻害作用

アッセイ用バッファー(0.01%ウシ血清アルブミン-10mMメルカプトエタノール-50mMカリウム・リン酸、pH7.0)に、³H-(ADP-リボース)1.15を加え、その27μLに被験物質およびヒト胎盤よ

7

り調製した核由来、ポリ(ADP-リボース)グリコヒドロラーゼ溶液を加えて全量30 μ Lとした後、37℃にて1時間インキュベーションした。その後、DE81濾紙に反応液を吸収させ、水、エタノール、アセトンで濾紙を洗浄した後、それを乾燥させ、液体シンチレーシ*

- | | |
|-------------------------|-------|
| ① 本発明化合物 | 10 g |
| ② 直打用微粒No. 209 (富士化学社製) | 110 g |
| メタケイ酸アルミン酸マグネシウム | 20 % |
| トウモロコシデンプン | 30 % |
| 乳糖 | 50 % |
| ③ 結晶セルロース | 60 g |
| ④ CMCカルシウム | 18 g |
| ⑤ ステアリン酸マグネシウム | 2 g |

【0032】①、③および④はいずれも予め100メッシュの篩に通す。この①、③、④と②をそれぞれ乾燥して一定含水率にまで下げた後、上記の重量割合で混合機を用いて混合する。全質均等にした混合末に⑤を添加して短時間(30秒間)混合し、混合末を打錠して、1錠200mgの錠剤とした。

【0033】この錠剤は必要に応じて通常用いられる胃20溶性フィルムコーティング剤(例えば、ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート)や食用性着色剤でコーティングしてもよい。

【0034】製剤例2:カプセル剤

- | | |
|----------|-------|
| ① 本発明化合物 | 50 g |
| ② 乳糖 | 930 g |

8

ョンカウンターにて、未反応基質³H-(ADP-リボース)を測定し、本酵素に対する試験物質の阻害作用を検討した。その結果、2', 3', 5'-トリ-0-ガロイルアデノシンのIC₅₀値は30 μ g/mlであった。

【0031】製剤例1:錠剤

- | | |
|-------------------------|-------|
| ① 本発明化合物 | 10 g |
| ② 直打用微粒No. 209 (富士化学社製) | 110 g |
| メタケイ酸アルミン酸マグネシウム | 20 % |
| トウモロコシデンプン | 30 % |
| 乳糖 | 50 % |
| ③ 結晶セルロース | 60 g |
| ④ CMCカルシウム | 18 g |
| ⑤ ステアリン酸マグネシウム | 2 g |

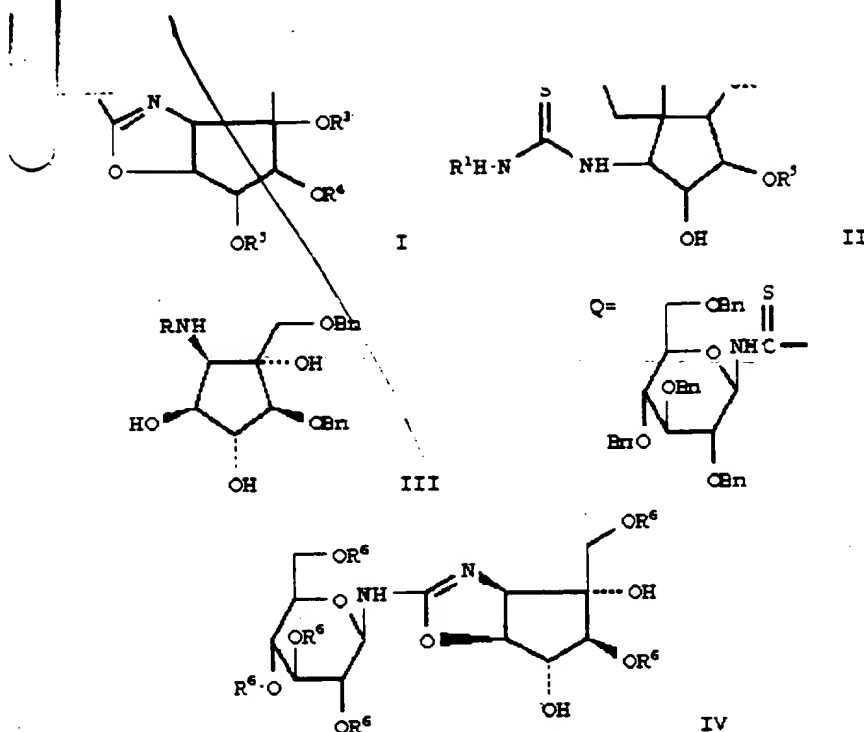
③ ステアリン酸マグネシウム 20 g

【0035】上記成分をそれぞれ秤量した後均一に混合し、混合粉体をハードゼラチンカプセルに200mgずつ充填した。

【0036】製剤例3:注射剤

- | | |
|----------|--------|
| ① 本発明化合物 | 5 mg |
| ② ブドウ糖 | 100 mg |
| ③ 生理食塩水 | 10 ml |

【0037】上記の混合液をメンブランフィルターで濾過後、再び除菌濾過を行い、その濾過液を無菌的にバイアルに分注し、窒素ガスを充填した後、密封して静脈内注射剤とした。

**Document Type**

Patent

Language

Japanese

Accession Number

1995:346687

Reference Number

122:133681

[Order Full-text](#)**CAplus Answer Number 4 - © 1998 ACS****Title**

Adenosine derivatives and their use in cancer immunotherapy

Inventor Name

Tanuma, Yasukazu; Naito, Yoichiro; Nakajima, Tsunetaka

Patent Assignee

Green Cross Corp., Japan

Publication Source

Jpn. Kokai Tokkyo Koho, 5 pp.

CODEN

JKXXAF

Patent Information

JP 04275296 A2 920930 Heisei

Application Information

JP 91-64017 910304

Abstract

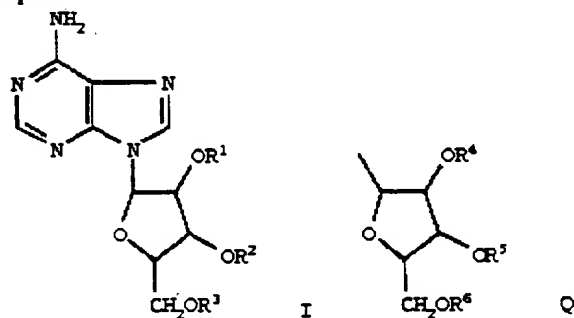
Title derivs. I [R1 = H, Q, A (= CO contg. OH- and lower alkoxy-substituted Ph); R2-6 = H, A; R1-3 and R2-6 are not simultaneously H] constitute effective ingredients for inhibitors of poly (ADP-ribose) **glycohydrolase** and are useful for cancer immunotherapy. Thus, gallic acid was treated with benzyl chloride in DMF at 140° and then with SOCl₂ to give 3,4,5-tribenzyloxybenzoyl chloride, which was stirred with adenosine at room temp. to give N,N',2',3',5'-pentakis(3,4,5-tribenzyloxybenzoyl)adenosine (II). Refluxing II with benzoylhydrazine in pyridine gave 2',3',5'-tris-O-(3,4,5-tribenzyloxybenzoyl)adenosine, which was stirred with Pd/C in AcOEt/MeOH at room temp. under N to give 2',3',5'-tri-O-galloyladenosine with IC₅₀ 30 .mu.g/mL in test for poly(ADP-ribose) **glycohydrolase** inhibition.

International Patent Classification**International Patent Classification, Main**

C07H019-167

International Patent Classification, Secondary

A61K031-70; C12N009-99

Graphic**Document Type**

Patent

Language

Japanese

Accession Number

1993:255263

Reference Number

118:255263

Order Full-text**CAPLUS Answer Number 5 - © 1998 ACS****Title**

Preparation of pyrrolidine and piperidine amino sugars as drugs

Inventor Name

Reitz, Allen; Baxter, Ellen

Patent Assignee

McNeilab, Inc., USA

Publication Source<http://stneasy.cas.org/cgi-bin/sdcgl?F-25510-13/59010/9-200336>

01/1998

THIS PAGE BLANK (USPTO)